

Andre Akira Gonzaga Yoshikawa

**ESTUDO DO DESENVOLVIMENTO PÓS-EMBRIONÁRIO DE
Lucilia eximia (Wiedemann, 1819) (Diptera: Calliphoridae) E SUA
REPRODUTIBILIDADE**

Monografia submetida ao Curso de
Graduação em Ciências Biológicas da
Universidade Federal de Santa
Catarina para a obtenção do Grau de
Bacharel em Ciências Biológicas

Orientador: Prof. Dr. Carlos José de
Carvalho Pinto

Florianópolis
2018

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor
através do Programa de Geração Automática da Biblioteca Universitária
da UFSC.

Gonzaga Yoshikawa, Andre Akira
ESTUDO DO DESENVOLVIMENTO PÓS-EMBRIONÁRIO DE
Lucilia eximia (Wiedemann, 1819) (Diptera:
Calliphoridae) E SUA REPRODUTIBILIDADE / Andre
Akira Gonzaga Yoshikawa ; orientador, Carlos José
de Carvalho Pinto, coorientador, Carlos Roberto
Zanetti, 2018.

59 p.

Trabalho de Conclusão de Curso (graduação) -
Universidade Federal de Santa Catarina, Centro de
Ciências Biológicas, Graduação em Ciências Biológicas,
Florianópolis, 2018.

Inclui referências.

1. Ciências Biológicas. 2. Estudo de entomologia
forense que descreve e compara o tempo de
desenvolvimento dos estágios imaturos de L. eximia
em duas gerações criadas em laboratório. . I. de
Carvalho Pinto, Carlos José . II. Zanetti, Carlos
Roberto . III. Universidade Federal de Santa
Catarina. Graduação em Ciências Biológicas. IV. Título.

Andre Akira Gonzaga Yoshikawa

**ESTUDO DO DESENVOLVIMENTO PÓS-EMBRIONÁRIO DE
Lucilia eximia (Wiedemann, 1819) (Diptera: Calliphoridae) E SUA
REPRODUTIBILIDADE**

Esta Monografia foi julgada adequada para obtenção do Título de
“Bacharel” e aprovada em sua forma final pelo Curso de Ciências
Biológicas

Florianópolis, 22 de novembro de 2018.

Prof., Dr.
Carlos Roberto Zanetti

Banca Examinadora:

Prof., Dr. Carlos José de Carvalho Pinto
Orientadora
Universidade Federal de Santa Catarina

Prof.^a, Dr. Ana Carolina Ries

Prof., Dr. Carlos Brisola
Universidade Federal de Santa Catarina

AGRADECIMENTOS

Gostaria de agradecer a minha mãe Maria e meu pai William, por tudo.

As minhas irmãs Ananda e Camilla, o verdadeiro significado de irmandade.

Ao Professor Carlos Pinto, que fez de sua frase “tá comigo, tá com Deus” verdadeira e ajudar seus alunos com tudo ao seu alcance.

A Professora Maria Cristina, que despertou meu interesse pela biologia. A Professora Luciane Perazzolo, que não me deixou desistir do curso. E ao Professor Márcio Dutra, que me ajudou a redescobrir o interesse pela biologia.

Aos meus amigos Ana, Daniely, Gabriel, Isis, Jéssica, Mariana, Monique e Thyane que fizeram parte da minha aventura acadêmica e pessoal. Também agradeço aos meus amigos de anos, Bruna e Lucas. Além de Alex, que ensinou muito sobre a vida.

Aos meus amigos de laboratório, especialmente Caio, Isabela e Thaís.

E a Doutora Ana Ries que sempre se dispôs a me ajudar com problemas acadêmicos e pessoais.

“[...] precisamos recorrer aos insetos porque eles contam toda a história.”
(Janyra Oliveira da Costa, 2010)

RESUMO

A entomologia forense é o grande campo de interação entre os insetos e a criminalística, principalmente quanto a estimativa do IPM. Para isso, são necessários estudos do desenvolvimento pós-embrionário de espécies necrófagas. A espécie *Lucilia eximia* (Diptera: Calliphoridae) mostra-se de grande importância forense para região da Grande Florianópolis, portanto, o presente estudo tem como objetivo descrever o desenvolvimento da espécie em duas gerações criadas em laboratório e fazer sua comparação. O experimento ocorreu em 2017 com a geração F2 criada em laboratório a partir de indivíduos coletados na UFSC. Carne bovina em início de putrefação foi posta para postura de ovos e observada a cada hora até as primeiras posturas de ovos, essas massas de ovos foram também observadas a cada hora até a emergência das larvas. Então, 120 larvas foram separadas em 3 frascos (40 cada) com 50g de carne bovina, em que se coletou uma larva de cada frasco a cada 2 horas até atingirem o estágio de L3 onde passou-se a coletar de 12 em 12 horas. As larvas coletadas eram sacrificadas, medidas e armazenadas em álcool. A partir do estágio de pupa, essas eram observadas a cada 12 horas até emergirem os adultos. A repetição do experimento ocorreu em 2018, com a geração F₁, também resultante de coletas na UFSC. Foram utilizadas 280 larvas, com a mesma metodologia. O tempo de desenvolvimento pós-embrionário de *L. eximia* foi de 428 horas no experimento e 424 horas na repetição. Para o experimento os tempos foram: ovo 18 horas; L1 10 horas; L2 12 horas; L3 56 horas; pré-pupa 186 horas e pupa 204 horas. Para a repetição: ovo 8 horas; L1 8 horas; L2 16 horas; L3 58 horas; pré-pupa 186 horas e pupa 204 horas. As médias de tamanho para o experimento foram L1 3,8±0,33mm, L2 6,5±1,03mm; L3 11,59±2,07mm e pré-pupa 10,17±1,19mm. Para a repetição L1 3,3±0,50mm; L2 5,7±1,36mm; L3 11,41±2,39mm e pré-pupa 12,42±0,86mm. Foi possível observar diferenças entre estágios para tempo de desenvolvimento e tamanho, mas para o desenvolvimento total não. O tempo de desenvolvimento médio de *L. eximia* para região de Florianópolis a 23,4-23,8°C é de 17,75±0,11 dias.

Palavras-chave: Entomologia. Forense. IPM.

ABSTRACT

Forensic entomology is the science field that studies insects in association with criminalistics. Particularly, the estimate of PMI, which requires the study of the post-embryonic development of necrophagous species. *Lucilia eximia* (Diptera: Calliphoridae) showed great forensic importance in the Grande Florianópolis area. This study aims to describe and compare the post-embryonic development of *L. eximia* in two generations reared in laboratory. The experiment occurred in 2017 with a F2 generation established from individuals collected in the UFSC area. Ground beef was given to stimulate oviposition and checked every hour until the egg masses were laid. The eggs were observed until the emergence of larvae. Then, 120 larvae were separated in three containers (40 each) with 50g of ground beef. One larva was collected, sacrificed and measured every two hours until the third instar, in which one larva was collected every 12 hours. Once they turned into pupae, they were observed every 12 hours until the emergence of adults. The repetition of the experiment occurred in 2018 with a F1 generation collected in the same area. The same methodology was applied with 280 larvae. As result the development time of *L. eximia* in the experiment was 428 hours and in the repetition 424 hours. For the experiment the time for each stage was: egg 18 hours; L1 10 hours; L2 12 hours; L3 56 hours; pre-pupae 186 hours and pupae 204 hours. As for the repetition: egg 8 hours; L1 8 hours; L2 16 hours; L3 58 hours; pre-pupae 186 hours and pupae 204 hours. The size results for the experiment were: L1 3.8 ± 0.33 mm; L2 6.5 ± 1.03 mm; L3 11.59 ± 2.07 mm and pre-pupae 10.17 ± 1.19 mm. And for the repetition: L1 3.3 ± 0.50 mm; L2 5.7 ± 1.36 mm; L3 11.41 ± 2.39 mm and pre-pupae 12.42 ± 0.86 mm. Concluding, it is possible to observe that there are differences in time of development and size of larvae between both generations. The post-embryonic development of *L. eximia* for the Florianópolis area is $17,75 \pm 0,11$ days at $23,4-23,8^{\circ}\text{C}$.

Keywords: Forensic. Entomology. PMI.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Indivíduo adulto de *L. eximia*. **Erro! Indicador não definido.**

Figura 2. Morfologia externa e interna de larvas de terceiro instar de *L. eximia*. 2a - larva em vista longitudinal, pode-se observar o comprimento. A imagem 2b é uma vista da porção anterior da larva, região onde é possível observar os espiráculos anteriores. 2d - esqueleto cefalofaríngeo da larva. **Erro! Indicador não definido.**

Nenhuma entrada de índice de ilustrações foi encontrada.

Figura 4. Armadilha. A figura A representa a parte superior da armadilha, descrita como funil superior, que sempre fica tampado. A figura B mostra a parte basal da armadilha, furada que permite a entrada dos insetos. A figura C é chamada de funil, que sempre fica aberta permitindo a entrada de insetos parte superior da armadilha, e com o papelão envolto do bocal, impede a perda de insetos. A figura D mostra a armadilha montada 39

Figura 5. Foto de satélite da área de coleta. O círculo em preto representa a área de coleta 40

Figura 6. Gaiola de indivíduos adultos..... 41

LISTA DE GRAFICOS

Gráfico 1 - Tamanho (mm) por intervalo de hora Experimento 1. As linhas na parte superior representam os diferentes estágios de desenvolvimento, L1, L2, L3 e pré-pupa. As letras iguais representam intervalos numéricos que não significantemente diferentes e as letras diferentes representam intervalos numéricos diferentes, baseados nos testes de múltipla comparação de Tuckey. 52

Gráfico 2 - Tamanho (mm) por intervalo de hora Experimento 2. As linhas na parte superior representam os diferentes estágios de desenvolvimento, L1, L2, L3 e pré-pupa. As letras iguais representam intervalos numéricos que não significantemente diferentes e as letras diferentes representam intervalos numéricos diferentes, baseados nos testes de múltipla comparação de Tuckey e Dunn. 53

Gráfico 3 - Comparação entre as médias de tamanho de cada estágio, L1, L2, L3 e pré-pupa por intervalos de hora. 55

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Descrição em horas do desenvolvimento pós-embrionário de *L. eximia* no experimento 1, hora mínima representa a primeira visualização do estágio e a hora máxima a última. Indivíduos foram criados em dieta a base de carne bovina em temperatura média de 23,8°C e umidade média de 70% 45

Tabela 2 - . Descrição em horas do desenvolvimento pós-embrionário de *L. eximia* no experimento 2, hora mínima representa a primeira visualização do estágio e a hora máxima a última. Indivíduos foram criados em dieta a base de carne bovina em temperatura média de 23,4°C e umidade média de 60%. 45

Tabela 3 - Comparação do tempo de duração dos estágios imaturos de *L. eximia* entre os dois experimentos. O tempo de duração foi estipulado a partir da primeira e da ultima aparição do estágio imaturo. 46

Tabela 4 - Média e Desvio Padrão do comprimento dos estágios imaturos nos dois experimentos. 47

Tabela 5 - Comparação entre média do tempo de desenvolvimento de *Lucilia eximia* nos estudos de Souza *et al.* (2012) e do presente estudo. 48

Tabela 6 - Média do tempo de desenvolvimento de larva, pupa e larva a adulto do presente estudo em comparação a Paes *et al.* O presente estudo foi desenvolvimento com *L. eximia* com temperatura média de 23,6°C e UR média de 65%. Enquanto o estudo de Paes *et al.* foi desenvolvimento com *L. cuprina* a 20-22°C e UR entre 67-85%..... 51

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

IPM – Intervalo *Post-Mortem*

E1 – Experimento 1

R – Repetição do experimento

UR- Umidade Relativa

DP – Desvio Padrão

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	29
1.1	OS INSETOS E A ENTOMOLOGIA FORENSE.....	29
1.2	O CICLO DE VIDA E A ESTIMATIVA DO IPM	30
1.3	<i>Lucilia eximia</i>	31
2	OBJETIVOS.....	37
	OBJETIVO GERAL	37
2.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	37
3	MATERIAIS E MÉTODOS.....	39
3.1	CONFEÇÃO DAS ARMADILHAS	39
3.2	DISPOSIÇÃO DAS ARMADILHAS E COLETA.....	40
3.3	ESTABELECIMENTO E MANUTENÇÃO DA COLÔNIA	39
3.4	DETERMINAÇÃO DA DURAÇÃO DO DESENVOLVIMENTO	42
3.5	EXPERIMENTOS	42
3.6	ANÁLISE ESTATÍSTICA	43
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO	45
5	CONCLUSÃO	56
6	REFERÊNCIAS	57

1 INTRODUÇÃO

1.1 OS INSETOS E A ENTOMOLOGIA FORENSE

A entomologia é definida como o estudo dos insetos (Classe Insecta), de todos os aspectos e suas relações com o meio, as plantas, os outros animais e seres humanos (Gallo *et al.* 1988). Estima-se que cerca de 1 milhão de espécies de insetos tenham sido descritas, as quais representariam apenas 20% das espécies de insetos existentes no planeta (Stork, 2018). Em 2005, estimava-se que cerca de 11,9% desses insetos eram encontradas no Brasil (Lewinsohn e Prado 2002, 2005). Diante dessa grande diversidade, os insetos representam e ocupam espaços-chaves em todos os biomas brasileiros, resultando na grande importância econômica que eles representam. Portanto, a Entomologia pode ser dividida em diversas áreas, como Entomologia Agrícola, Médica, Veterinária, Forense e outras.

O foco desse trabalho é a Entomologia Forense, descrita por Pujol-Luz *et al.* (2008) como o estudo dos Artrópodes relacionados a questões criminais, ou seja, a Entomologia Forense é o amplo campo de interação entre o estudo dos Artrópodes e o sistema judicial (Byrd e Castner. 2009). Segundo Lord e Stevenson (1986) e adaptado por Pujol *et al.* (2008), a entomologia forense é dividida em três grandes áreas. (1) a Urbana, que visa estudar casos de infestação de insetos em móveis, imóveis e patrimônios públicos; (2) a de Produtos Estocados, comum na indústria alimentícia, onde procura-se estudar como e onde ocorreu a infestação dos produtos; e (3) a Médico-Legal, que utiliza insetos como vestígios de crimes violentos, principalmente na determinação do Intervalo *Post-Mortem* (IPM).

O primeiro relato escrito de um caso onde a Entomologia Forense médico-legal auxiliou na investigação criminal que ocorreu na China no século XIII, em que um caso de um lavrador morto por uma foice foi solucionado. Todos os lavradores foram obrigados a colocarem suas foices ao sol e moscas pousaram apenas em uma das foices, atraídas por resquícios de sangue. Confrontado com essa evidência, o dono da foice confessou o crime. O médico francês Berneget, em 1855, foi o primeiro a utilizar insetos para estimar o Intervalo *Post-Mortem*, enquanto o livro “*La faune de cadavres*” de Mégnin (1894) foi a primeira obra dedicada a Entomologia Forense (Pujol-Luz *et al.* 2008).

No Brasil, os primeiros estudos de entomologia forense foram feitos por Edgard Roquette-Pinto (1908) e Oscar Freire (1914), que desenvolveram estudos a partir de casos humanos e animais para analisar

a fauna cadavérica de insetos necrófagos da Mata Atlântica. Mas entre os anos 1940 e 1980 foram poucos os trabalhos publicados no país, concordando com a negligência que essa ciência teve em escala mundial, principalmente pela distância entre o entomólogo e o profissional da criminalística (Pujol-Luz *et al.* 2008).

Segundo Oliveira-Costa (2008), três tipos de delitos podem usar a entomologia forenses: tráfico, maus tratos e morte. O tráfico de entorpecentes, especialmente a maconha, pode ser investigado a partir de insetos que estão prensados a drogas, os quais permitem uma localização da zona produtora da droga e de possíveis rotas de tráfego a partir de estudos de distribuição geográfica das espécies de insetos encontrados. Maus tratos podem ser investigados em casos humanos, onde exista privação de cuidados de incapacitados e colonização por insetos em feridas, fraldas e etc. Já em casos de morte violenta, os insetos podem auxiliar na resposta de quem é a vítima, qual foi a causa da morte e quando ocorreu.

1.2 O CICLO DE VIDA E A ESTIMATIVA DO IPM

O IPM (Intervalo *Post-mortem*) corresponde ao intervalo entre a morte até o descobrimento do cadáver. A determinação desse intervalo requer o conhecimento dos fenômenos cadavéricos destrutivos (autólise e putrefação) e conservativos (mumificação, maceração, saponificação e calcificação) (Chaves 2016). Existem vários métodos de estimativa do IPM, como a rigidez cadavérica (*rigor mortis*), a perda de temperatura (*algor mortis*), manchas hipostáticas (*livor mortis*), entre outros, que são métodos tradicionais utilizados por médicos legistas. No entanto, esses métodos apresentam um grau de imprecisão na estimativa, principalmente depois de 72 horas da morte (Oliveira-Costa 2008).

Quando ocorre a morte, os primeiros animais a colonizar o corpo serão os insetos e, segundo Amendt *et al.* (2004), dentre eles, os dípteros são os primeiros. Nesse substrato, espécies necrófagas vão ser aquelas que se alimentam do cadáver, principalmente durante a sua fase imatura e, além delas, ainda são encontrados os necrófilos (que se alimentam dos necrófagos), os onívoros (que se alimentam de necrófagos e dos necrófilos), os oportunistas e os acidentais (Almeida *et al.* 2010). Dentre esses, os necrófagos são os de maior importância para a estimativa do IPM, já que tem seu desenvolvimento pós-embrionário no substrato.

Existem duas formas de estimativa de IPM a partir de insetos. A primeira utiliza os insetos necrófagos mais velhos, que permitem a determinação do IPM mínimo (Amendt *et al.* 2004). Esse acontece a partir

da estimativa da idade do inseto, onde as larvas coletadas corresponderam as primeiras posturas de larvas ou de ovos no cadáver fresco, ou seja, seu tempo mínimo de exposição (Oliveira Costa 2008). As moscas das famílias Calliphoridae, Sarcophagidae e Muscidae são as mais frequentes nesses casos (Chaves 2016).

O processo utilizado para determinação do IPM mínimo no Laboratório de Transmissores de Hematozoários (UFSC) corresponde a: recebimento das larvas mais velhas coletadas por Peritos Criminais; a fixação de parte dessas larvas para verificação do instar larval e seu tamanho; a criação dessas larvas até adultos; identificação da espécie; e estima-se o IPM usando tabelas de desenvolvimento pós-embrionário para temperaturas semelhantes.

O segundo método de estimativa do IPM utiliza a sucessão cadavérica. Toda decomposição vai apresentar uma comunidade de artrópodes chamada de fauna cadavérica, que se comporta de forma padronizada. Essa comunidade é altamente associada à sua localização geográfica e bioma, mas tende a apresentar diferentes grupos de animais em distintos estágios da decomposição. Tem maior eficácia para a estimativa de IPM máximo (Sharma *et al.* 2013).

Na estimativa do IPM diversas variáveis podem interferir em um resultado. Por exemplo, se houver a restrição do acesso ao corpo, em casos de ambientes fechados e corpos cobertos, pode dificultar a colonização e consequentemente obter um IPM incorreto. Nesse caso, a estimativa de IPM a partir da entomologia forense é ineficiente.

Dentre essas variáveis, uma das mais estudadas é a temperatura. A temperatura é um fator importante no desenvolvimento de insetos. Ambientes frios retardam o desenvolvimento, e os insetos podem chegar a entrar em diapausa (pausa do desenvolvimento por fatores ambientais). Por outro lado, temperaturas altas podem estimular um desenvolvimento mais rápido (Chaves 2016). Isso está estreitamente ligado a estimativa do IPM, de tal forma que os experimentos que simulam o desenvolvimento pós-embrionário de espécies devam respeitar a temperatura ambiental, para que se aproxime o máximo do ambiente natural.

1.3 *Lucilia eximia*

Como citado acima, as moscas Calliphoridae são os mais importantes entre os dípteros de interesse forense. Os trabalhos de Moura *et al.* (1997) e Souza *et al.* (2008) citam *Lucilia eximia*, *Chrysomya megacephala*, *C. albiceps*, *Hemilucilia segmentaria* e *Sarconesia chlorogaster* como as espécies mais encontradas em carcaça de rato no

Paraná e carcaça de coelho no Rio Grande do Sul. Segundo Pereira e Carvalho-Pinto (2018), *L. eximia*, *L. cuprina*, *C. megacephala*, *C. albiceps* e *H. segmentaria* são as espécies que mais ocorrem em cadáveres humanos na Grande Florianópolis.

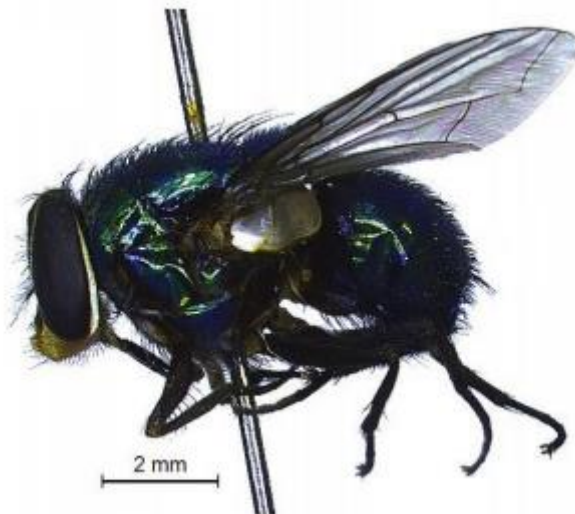


Figura 1. Indivíduo adulto de *L. eximia*. Adaptado de: Kossman *et al.* 2013.

Nos estudos de Moura *et al.* (1997), Souza *et al.* (2008) e Krüger *et al.* (2010) as espécies *L. eximia* e *C. albiceps* não demonstraram preferência sazonal, o que as torna bons modelos para a estimativa do IPM, já que uma marcada sazonalidade poderia fazer com que a espécie somente pudesse ser utilizada em uma época específica do ano. Além disso, Souza *et al.* (2008) percebeu que a população de *L. eximia* era maior durante os primeiros dias de exposição da carcaça, enquanto *C. albiceps* era mais abundante no final da decomposição. Essa alternância de populações é explicada pelo comportamento predador da larva de *C. albiceps* (Denno e Cothran, 1975), de maneira que a postura de ovos de *L. eximia* nos primeiros dias funciona como um mecanismo de proteção.

Azevedo e Krüger (2013) testaram a influência de temperatura e umidade em califorídeos de importância forense na região de Pelotas, Rio Grande do Sul, durante um ano. Foi possível perceber a presença de *L. eximia* e *C. albiceps* durante todo o experimento, o que corrobora com os estudos de Moura *et al.* (1997) e Souza *et al.* (2008). No entanto, Azevedo

e Krüger (2013) relatam que *L. eximia* apresenta dominância nas estações inverno, primavera e outono, enquanto *C. albiceps* predominam durante o verão. Conclui-se que o fator que determina essa alternância entre as estações é o hábito predatório de *C. albiceps* e a sua dependência de fatores abióticos. *Chrysomya albiceps* dependia de temperaturas mais quentes para seu desenvolvimento, enquanto *L. eximia* não, fazendo com que a população de *L. eximia* diminuísse durante o verão devido ao aumento de *C. albiceps* no ambiente.

Lucilia eximia (Imagem 1) é uma espécie neotropical, cosmopolita, sinantrópica, com distribuição desde o México até o sul da América do Sul (Madeira *et al.* 1989; Standford 2014) e com preferência por carcaças expostas ao sol (Barros-Souza *et al.* 2012; Archer e Elgar 2003). É a espécie do gênero *Lucilia* com maior distribuição do Brasil (Moura *et al.* 1997) e encontrada em diversas carcaças, desde porco (Souza *et al.* 1994; Carvalho *et al.* 2004), até humanos (Andrade *et al.* 2005), ratos (Moura *et al.* 1997) e coelhos (Souza *et al.* 2008). Essas características fazem de *L. eximia* uma espécie de grande interesse forense.



Figura 2. Morfologia externa e interna de larvas de terceiro instar de *L. eximia*. A imagem 2a mostra a larva em vista longitudinal, pode-se observar o comprimento. A imagem 2b é uma vista da porção anterior da larva, região onde é possível observar os espiráculos anterior. A imagem 2d representa o esqueleto cefalofaríngeo da larva. Fonte: Munoz-Garcia, C. I. 2016

A identificação dos instares larvais ocorre a partir do estigma posterior (Imagem 2) e do esqueleto cefalofaríngeo da larva, em que a

família Calliphoridae segue um padrão que varia pouco entre as espécies e já foi descrito por autores como Queiroz e Milward-de-Azevedo (1991) e Barros-Cordeiro & Pujol-Luz (2010).

Segundo Kosmann (2009), a partir de análises de DNA barcode da enzima citocromo C oxidase, *L. eximia* classifica-se como uma unidade biológica não-monofilética. Os indivíduos de *L. eximia* apresentam variação de nucleotídeos quando se compara populações oriundas de diferentes estados brasileiros resultando em, pelo menos, 3 haplótipos distintos. Indivíduos de Minas Gerais são semelhantes aos de São Paulo, enquanto indivíduos coletados no Paraná se aproximaram aos do Rio de Janeiro, já indivíduos do Rio Grande do Sul não se assemelharam a nenhum. Santa Catarina não foi incluída no experimento, reforçando a ideia de estudarmos a espécie no estado.

Kosmann (2009) também reforça a necessidade de uma revisão taxonômica do grupo, devido sua grande variação anatômica e genética. Além disso, essa espécie tem importância econômica, na medicina e veterinária, causando miases primárias e secundárias em animais domésticos no Brasil (Moretti e Thyssen 2006).

A descrição do estágio de pré-pupa e pupa de *L. eximia* foram feitos por Ramos-Pastrana *et al.* em 2017. Os autores descreveram o tempo de pré-pupa a adulto de 302 horas, sendo 80 de pré-pupa e 222 de pupa da geração F1 de indivíduos coletados Caquetá, Colômbia. Além disso, estabeleceram quatro fases para a pupa: 1) larva-pupa, das 0 às 23 horas onde existe o início do enrijecimento e escurecimento das larvas; 2) pupa criptocefálica, das 23-28 horas, caracterizada pela secreção de substâncias responsáveis pela formação do pupário e separação da epiderme e pupário; 3) pupa fanerocefálica, das 28 às 120 horas, onde ocorre a formação da capsula cefálica (possível de ser observado no nº1 da Imagem 3) e 4) adulto – pharate, em que ocorre a maturação do adulto empupado. A descrição do estágio de pupa pode ser um aliado na estimativa de um IPM exato, no entanto, pode variar bastante entre populações.

Não existe um consenso entre os entomólogos forense quando se trata de qual geração laboratorial é a mais adequada para o estudo do desenvolvimento pós-embrionário e sua reprodutibilidade. Grande parte dos autores não cita qual geração foi usada e não foi encontrado nenhum trabalho sobre os efeitos que a aclimatização em laboratório e a homozigose podem causar no desenvolvimento do inseto e como isso poderia afetar a estimativa do IPM.

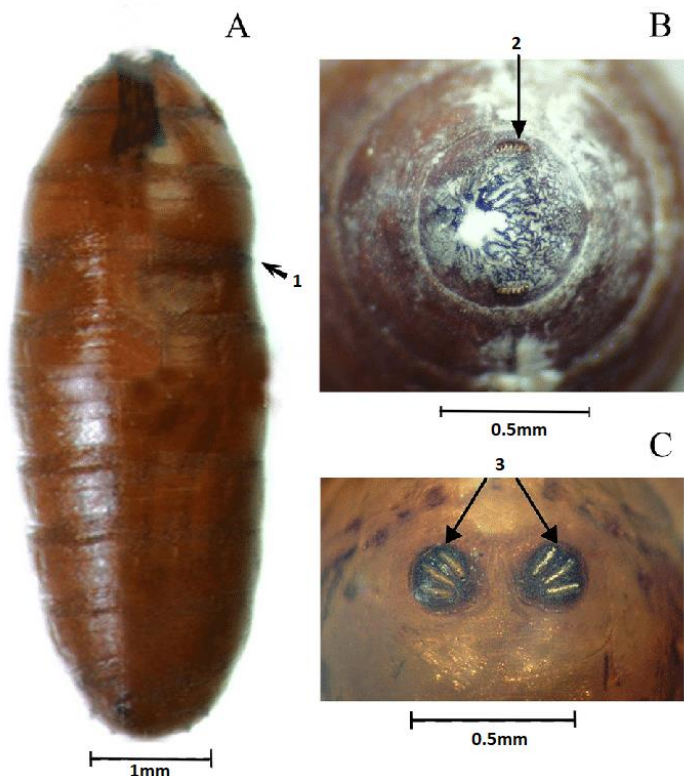


Figura 3. Morfologia externa da pupa de *L. eximia*. A letra A representa a imagem de vista longitudinal da pupa. Na letra B apresenta uma aproximação da região anterior e a letra C a região posterior. O número 1 aponta a linha de divisão de onde ocorre a formação cefálica do inseto. O número 2 aponta os espiráculos anterior. O número 3 aponta os espiráculos posterior. Adaptado de: Ramos-Pastrana, Y. 2017

Diante da importância de *L. eximia* e da falta de dados locais sobre o tempo de seu desenvolvimento pós-embriônico para auxiliar nos laudos confeccionados pelo Laboratório de Transmissores de Hematozoários para o Instituto Geral de Perícias da Secretaria Estadual de Segurança Pública de Santa Catarina. O presente estudo pretende suprir essa necessidade.

2 OBJETIVOS:

2.1 OBJETIVO GERAL:

Descrever o desenvolvimento pós-embrionário de *L. eximia*.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS:

- ❖ Estabelecer uma colônia de *L. eximia* no insetário do Laboratório de Transmissores de Hematozoários no departamento MIP/CCB/UFSC a partir de insetos capturados em campo;
- ❖ Determinar o tempo de desenvolvimento de cada ínstar larval do inseto em temperatura ambiente;
- ❖ Medir o tamanho das larvas de *L. eximia* em cada instar mantidas em temperatura ambiente;
- ❖ Definir a proporção sexual dos adultos emergidos;
- ❖ Comparar o experimento com a sua reprodução;
- ❖ Observar as diferenças entre duas gerações criadas em laboratório.

3 METODOLOGIA

3.1 CONFECÇÃO DAS ARMADILHAS

As armadilhas foram confeccionadas a partir de garrafas *pet* de dois litros, uma cortada próxima ao fundo e outra próxima ao gargalo, resultando em uma peça chamada de funil superior (Imagem 4.A) e basal (Imagem 4.B), respectivamente. A segunda garrafa cortada era utilizada para fazer o funil inferior (Imagem 4.C). No intuito de manter os espécimes presos em campo, o funil superior foi tampado e no funil inferior foi colocado um pedaço de papelão em volta da boca (Imagem 4.C). Na base da garrafa foram feitos furos para permitir a entrada dos insetos (Imagem 4.B). Então ela foi cortada para possibilitar o encaixe com as partes de cima, que foram fixadas com fita adesiva (Imagem 4.D).

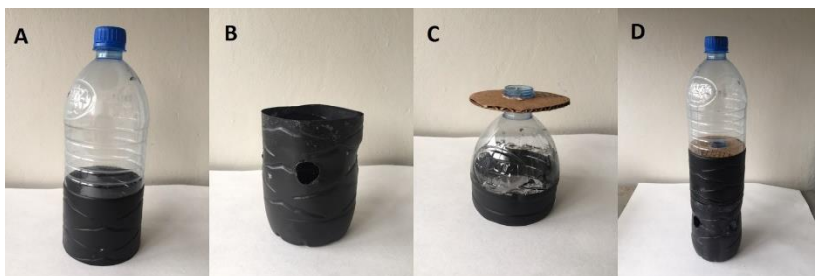


Figura 4. Armadilha de garrafa *pet* para moscas necrófagas. A figura A representa a parte superior da armadilha, descrita como funil superior, que sempre fica tampado. A figura B mostra a parte basal da armadilha, furada que permite a entrada dos insetos. A figura C é chamada de funil, que sempre fica aberta permitindo a passagem de insetos para parte superior da armadilha, e com o papelão envolto do bocal, impede a perda de insetos. A figura D mostra a armadilha montada. FONTE- original do autor

Como isca foi utilizada fígado de galinha mantido previamente por 48 horas em temperatura ambiente. Cerca de 25 gramas da isca foram colocados em um pote plástico de 50 ml, com *voile* por cima preso com elástico para evitar a oviposição dos insetos na isca. Esses copos foram presos com fita adesiva na base da parte inferior da garrafa.

3.2 DISPOSIÇÃO DAS ARMADILHAS E COLETA

A disposição das armadilhas foi feita no *campus* da UFSC de Florianópolis, atrás dos prédios da ala nova do CCB, no bairro Córrego Grande (Imagem 5).

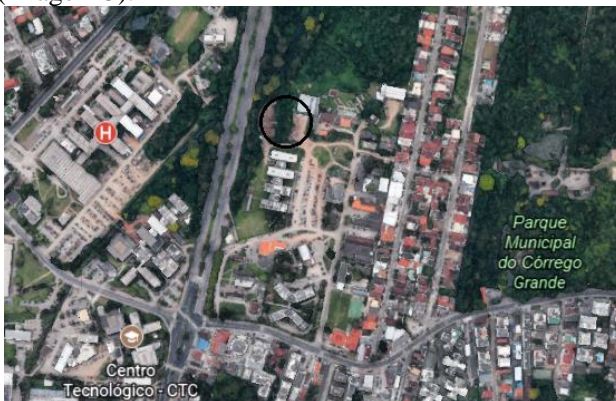


Figura 5. Foto de satélite da área de coleta. O círculo em preto representa a área de coleta.

Fonte: Google Maps. Adaptado <
<https://www.google.com.br/maps/place/Universidade+Federal+de+Santa+Catarina,+Campus+Florian%C3%B3polis/@-27.5984594,-48.5166334,672m/data=!3m1!1e3!4m5!3m4!1s0x952739ab06a8bca7:0x9904bca1385e0f9d!8m2!3d-27.6005949!4d-48.5196415> > Acesso em 20/09/2017

Foram dispostas seis armadilhas aleatoriamente na área de coleta, presas a uma altura de 1,30m e revisadas a cada 24 horas, por 14 dias consecutivos. A troca da isca ocorria a cada 7 dias.

3.3 ESTABELECIMENTO E MANUTENÇÃO DA COLÔNIA

Os indivíduos capturados eram transferidos da armadilha para uma gaiola de triagem onde descansavam por 48 horas. Após esse período, as moscas eram individualizadas, identificadas com auxílio de chaves de taxonômicas e os indivíduos de *L. eximia* eram transferidos para a gaiola de criação. Essas gaiolas (triagem e de criação) consistiam de um cubo de acrílico de 39 x 39 x 39 cm com duas aberturas com manga na frente para o acesso e aberturas laterais cobertas por *voile* para aeração (Imagem 6).

Para identificação específica, as moscas foram colocadas em tubos plásticos individuais e mantidas a -20°C por 90 segundos, até que ficassem imóveis e permitisse a manipulação. A identificação era feita de

forma rápida e foram usados caracteres de fácil observação da espécie *L. eximia*. Tais critérios foram estabelecidos a partir da chave de identificação de dípteros de interesse forense da América do Sul, desenvolvida por Carvalho et al. (2008) e pela chave de identificação de Calliphoridae das Américas ao Sul do México por Kosmann (2013). Os caracteres utilizados foram: veia mediana (M1) distintamente angulosa, porção basal da nervura radial (remígio) sem cerdas em vista dorsal, calíptra a torácica nua na superfície dorsal e duas cerdas acrosticais pós-suturais. A diferenciação sexual dos indivíduos foi feita a olho nu, pois os machos adultos de *L. eximia* são holópticos e as fêmeas dicópticos.

As gaiolas eram mantidas em temperatura ambiente, cerca de 25°C, com fotoperíodo e umidade natural (12h claro e 12h escuro e 60% de UR). Aos indivíduos adultos era oferecida dieta composta de proporção de 1:1 mel e água destilada, segundo Queiroz e Milward-de-Azevedo (1991). Junto à dieta, era colocado uma placa de Petri com algodão umedecido com água destilada. A dieta era trocada a cada dois dias e a limpeza da gaiola era realizada com algodão umedecido semanalmente.



Figura 6. Gaiola de indivíduos adultos. Adaptado de: Barcelos, 2014.

Para estimular a oviposição, 25 g de carne bovina moída eram colocados na gaiola durante a manhã e retirados à noite, com ou sem a presença de ovos, para evitar o desenvolvimento e o escape de larvas e manter a umidade da carne e a proliferação de fungos na carne. Para o desenvolvimento dos imaturos era oferecido uma mistura de 1:1 de carne bovina moída e fígado bovino ou de galinha, disposto em um frasco plástico de 200ml, o qual era colocado dentro de outro frasco de 1l contendo vermiculita para a pupação dos insetos. O pote de 1l era fechado com *voile* e elástico e mantido em uma caixa plástica de 50 x 60 x 15cm fechada, com algodão umedecido no fundo.

3.4 DETERMINAÇÃO DA DURAÇÃO DO DESENVOLVIMENTO

Para determinação da duração do desenvolvimento pós-embrionário de *L. eximia* foram colocados 100 gramas de carne bovina moída na gaiola de criação, que foram observados até a cada duas horas até a postura da primeira massa de ovos, marcada como *hora zero*. Essa massa de ovos foi observada a cada uma hora para verificar o momento da eclosão das larvas.

Foram separadas 40 larvas em 10 frascos plásticos com 50 gramas de carne moída bovina, respeitando a proporção de no mínimo 1:1g de substrato para cada larva (Queiroz e Milward-de-Azevedo 1991). Então se retirou de forma aleatória uma larva de cada pote a cada duas horas, com objetivo de verificar o estágio larval e o tamanho. Para a definição do estágio larval observou-se o espiráculo larval e para determinação do tamanho as larvas foram medidas com auxílio de um paquímetro digital (Barros-Cordeiro e Pujol-Luz 2010).

Essa metodologia foi repetida até as larvas entrarem em terceiro ínstar quando começou-se a coletar as larvas de 12 em 12 horas, pois o terceiro ínstar é o mais demorado do desenvolvimento larval da mosca. Quando entraram em pupa, não se retirou mais nenhum indivíduo e apenas observou-se de 12 em 12 horas para verificar o momento da emergência (Barros-Cordeiro e Pujol-Luz 2010).

3.5 EXPERIMENTOS

O experimento foi feito duas vezes no período de um ano. O primeiro experimento de setembro a outubro de 2017 e o mesmo foi repetido de agosto a setembro de 2018. O primeiro experimento foi realizado com 120 larvas, totalizando três frascos com 40 larvas em cada. Enquanto a repetição foi realizada com 280 larvas, que foram mantidas

em sete frascos plásticos também com 40 larvas. O primeiro experimento foi realizado com a geração F2 e a repetição foi feito com a geração F1, prole de uma geração selvagem recém coletada.

3.6 ANÁLISE ESTATÍSTICA

As análises estatísticas foram realizadas com o Graphpad Prism 6. Foram realizados os testes Komogorov-Smirnov para determinar se os dados eram paramétricos. Posteriormente foi feito o ANOVA e teste Tuckey para dados paramétricos e o teste Kruskal-Wallis e teste Dunn para não paramétricos.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

O tempo de desenvolvimento pós-embrionário de *L. eximia* foi de 428 horas (17,8 dias) a 23,8°C e 70% de umidade conforme o primeiro experimento (E) descrito na Tabela 1. Segundo a repetição o (R) descrito na Tabela 2, o desenvolvimento de *L. eximia* foi de 424 horas (17,7 dias) a 23,4°C e 60% de umidade.

Tabela 1. Descrição em horas do desenvolvimento pós-embrionário de *L. eximia* no primeiro experimento, hora mínima representa a primeira visualização do estágio e a hora máxima a última. Indivíduos foram criados em dieta a base de carne bovina em temperatura média de 23,8°C e umidade média de 70%.

Estágio	Hora mínima*	Hora máxima*	Tempo acumulado*
Ovo	18	18	18
L1	18	28	28
L2	28	40	40
L3	40	104	104
Pré-pupa	68	254	254
Pupa	224	428	428
Adulto	428	-	-

*Em horas.

Tabela 2. Descrição em horas do desenvolvimento pós-embrionário de *L. eximia* na repetição, hora mínima representa a primeira visualização do estágio e a hora máxima a última. Indivíduos foram criados em dieta a base de carne bovina em temperatura média de 23,4°C e umidade média de 60%.

Estágio	Hora mínima*	Hora máxima*	Tempo acumulado*
Ovo	8	8	8
L1	8	16	16
L2	16	26	36
L3	34	88	88
Pré-pupa	64	250	254
Pupa	220	424	424
Adulto	424	-	-

*Em horas.

O período de ovo variou 10 horas entre os dois experimentos, sendo no E1 observado a sua eclosão em 18 horas e no E2 a 8 horas (Tabela 3).

O primeiro estágio larval não variou muito entre o experimento e a repetição, no E teve sua duração de 10 horas e no R de 8 horas (Tabela 3). No entanto, conforme o tempo acumulado e o tamanho, as larvas de primeiro instar foram coletadas até a 28ª hora (Tabela 1) e apresentaram uma média de 3,8 mm (Tabela 4) no E. Já no R as larvas de primeiro instar foram coletadas até a 16ª hora (Tabela 2) e apresentaram média de 3,3 mm.

Tabela 3. Comparação do tempo de duração dos estágios imaturos de *L. eximia* entre o experimento e a repetição. O tempo de duração foi estipulado a partir da primeira e da última aparição do estágio imaturo. Foi então feita a média e o DP dos dados.

Estágio	Duração experimento *	Duração repetição*	Média e DP *
Ovo	18	8	13±7,07
L1	10	8	9±1,41
L2	12	16	14±2,82
L3	56	52	54±2,82
Pré-pupa	186	186	186±0
Pupa	204	204	204±0

*Em horas.

Para o segundo instar larval, o tempo de duração foi de 12 horas para o E e 16 horas para a R (Tabela 3). No E o segundo instar foi observado da 28ª até a 40ª hora (Tabela 1), enquanto na R foi observado da 16ª a 26ª hora (Tabela 2). Quanto a suas médias de tamanho foram de 6,5 mm e 5,7 mm para o E e R, respectivamente.

Tabela 4. Média e Desvio Padrão do comprimento dos estágios imaturos no experimento e repetição.

Estágio	Experimento 1*		Repetição*	
	Média	±DP	Média	±DP
L1	3,8	0,33	3,3	0,50
L2	6,5	1,03	5,7	1,36
L3	11,59	2,07	11,41	2,39
Pré-pupa	10,17	1,19	12,42	0,86

*Em milímetros.

O terceiro instar larval é o mais longo e teve seu tempo de duração de 56 e 52 horas para E e R, respectivamente. Foram observados da 40^a até a 104^a hora no E (Tabela 1) e da 36^a até a 88^a hora na R (Tabela 2). Esse estágio larval apresentou uma média de 11,59 mm no E e 11,41 mm na R (Tabela 4). Esses indivíduos foram os últimos coletados imersos na dieta de carne bovina, a partir do momento que as larvas começavam a sair da dieta, entravam no estágio de pré-pupa.

Apesar de larvas de terceiro instar terem sido coletadas até a 104^a e 88^a hora (E e R), as pré-pupas começaram a serem observadas a partir da 68^a hora no E (Tabela 1) e 64^a hora na R (Tabela 2) e vistas até as horas 254 e 250, respectivamente. Para ambos (experimento e repetição) esse estágio do desenvolvimento teve um tempo de duração de 186 horas (Tabela 3). No entanto variaram quanto ao tamanho, 10,17 mm para E e 12,42 mm para R (Tabela 4).

Quando entraram no estágio de pupa, as coletas eram cessadas e a observação a cada 12 horas era feita para contagem de pupas e verificação da emergência de adultos. O estágio de pupa teve a sua duração de 204 horas em ambos (Tabela 3) e durou da 224^a a 428^a hora (Tabela 1) e 220^a a 424^a hora (Tabela 2). Os primeiros adultos emergiram na hora 428 no E e 424 na R (Tabela 1 e 2).

O desenvolvimento pós-embrionário de *L. eximia* foi descrito por Souza *et al.* (2012) em duas estações de Manaus, Amazônia. Os autores descreveram o tempo de desenvolvimento na estação chuvosa (temperatura de 25,87±1,27°C e UR 82,57±6,40%) e na estação menos chuvosa (temperatura de 28,03±1,60°C e UR 71,24±6,23%). Para estação chuvosa, o ovo teve duração de 13,15 horas, L1 16,3 horas, L2 59,57 horas, L3 153,26 horas e pupa 216 horas. Para estação menos chuvosa ovo teve duração de 12,5 horas, L1 12,17 horas, L2 24,51 horas, L3 97,41 horas e pupa 175,15. Os autores também descreveram o tempo mínimo e

máximo de desenvolvimento total, que para estação chuvosa foi de 314,26 horas e 383,06 horas, respectivamente; e para estação menos chuvosa 451,39 horas e 504,24 horas respectivamente.

Quando comparados os resultados do experimento e da repetição com o trabalho desenvolvido por Souza *et al.* (2012) é possível observar semelhanças e diferenças. O tempo médio de ovo, L2 e L3 das duas estações se difere tanto do tempo de ovo do E e da R. Para L1 a estação menos chuvosa teve uma semelhança maior com o E e a R. Enquanto para pupa, o tempo de desenvolvimento mais semelhante foi da estação chuvosa com ambos E e R.

Quando comparadas as médias entre as duas estações de Souza *et al.* (2012) com as médias do presente estudo (Tabela 5), é possível observar que o tempo de ovo, pupa e o desenvolvimento total apresentaram semelhança entre ambos os experimentos. Enquanto L1, L2, L3 apresentaram variações significantes entre os dois experimentos. Tal divergência entre os resultados pode ser explicada pela diferença de temperatura e umidade entre os experimentos. Como citado por Chaves (2016) a temperatura e umidade são fatores abióticos que podem afetar o desenvolvimento de insetos. Ainda, o estágio de pré-pupa não é descrito pelos autores, podendo ser encaixado tanto em pupa como em larvas L3, causando variação quando comparados os trabalhos. Além disso, são populações diferentes, Souza *et al.* (2012) descrevem o desenvolvimento de *L. eximia* em Manaus, Amazona, enquanto o presente estudo ocorreu em Florianópolis, Santa Catarina.

Tabela 5. Comparação entre média do tempo de desenvolvimento de *Lucilia eximia* nos estudos de Souza *et al.* (2012) e do presente estudo.

Estágio	Média Souza <i>et al.</i> (2012)*	Média do presente estudo*
Ovo	12,83±0,46	13±7,07
L1	14,24±2,92	9±1,41
L2	42,04±24,79	14±2,82
L3	125,84±40,20	54±2,82
Pré-pupa	-	186±0
Pupa	195,58±28,89	204±0
Total	413,23±43	426±2

*Em horas.

A descrição do desenvolvimento pós-embrionário de *L. cuprina* e *L. sericata* já foi feita por diversos autores. Ambas são espécies de interesse forense com ampla distribuição no Brasil. Por serem espécies do mesmo gênero de *L. eximia*, a comparação entre o tempo desenvolvimento das mesmas foi feita.

Wall *et al.* (1992) descreveram o desenvolvimento de *L. sericata* em diferentes temperaturas, visando principalmente observar o seu desenvolvimento em cortes cutâneos de ovelhas e como a espécie reage na fase de pré-pupa em temperaturas frias de Bristol, Reino Unido. Observou-se que a eclosão do ovo demorou entre 10 e 12 horas, e os estágios larvais demoraram 2,5 dias, em temperaturas próximas a 30°C na região cutânea de ovelhas. Nos estágios subsequentes o autor focou em observar a diapausa do desenvolvimento em temperaturas frias.

Em Bogotá, Colombia, Rueda *et al* (2010), descreveram o desenvolvimento de *L. sericata* em duas diferentes dietas. Após a escolha da dieta mais apropriada para o desenvolvimento, os autores descreveram a duração dos estágios imaturos ao longo de sete gerações. O estágio de ovo teve a duração de 0,8 dias (19,2 horas), o primeiro ínstar larval foi de 1,1 dias (26,4 horas), o segundo ínstar de 1,92 dias (46,56 horas), o terceiro de 3,5 dias (84 horas) e o estágio de pupa 6,55 dias (157,2 horas). Em suma, o desenvolvimento de ovo a adulto foi de 13,87 dias (332,88 horas) a temperatura média de 22 C e 60% de umidade relativa.

Em comparação com o presente trabalho, o estudo de Wall *et al.* (1992) apresentou semelhança com a R na duração do estágio de ovo, 10 a 12 horas para Wall *et al.* (1992). e 8 horas para R. No entanto, quando se compara a duração dos estágios larvais existe grande diferença. Os autores descreveram os estágios com 2,5 dias de duração, enquanto o E apresentou 3,58 dias e R 3,33 dias. Provavelmente essa variação é decorrente da diferença de temperatura entre os experimentos. Foi descrito a superfície cutânea de ovelhas como o substrato para o desenvolvimento de *L. sericata* em seu estudo, onde relatou a temperatura média nunca abaixo de 30°C, enquanto o presente estudo teve as temperaturas médias em torno de 23-24°C. Como Chaves (2016) relata, a temperatura é um dos fatores abióticos determinantes no desenvolvimento dos insetos, de modo que baixas temperaturas costumam retardar e altas temperaturas aceleram o crescimento.

Quando se compara com o experimento de Rueda *et al.* (2010) existe uma grande divergência quanto ao tempo total de desenvolvimento pós-embrionário, os autores descrevem o desenvolvimento total de *L. sericata* em condições laboratoriais de 13,87 dias, enquanto o presente trabalho observou 17,7 e 17,8 dias para *L. eximia*. Outra divergência que

se observa é a ausência da descrição do estágio de pré-pupa no estudo, provavelmente incorporado no estágio de larva pelos autores. A duração dos estádios larvais e estágio de pupa variaram bastante do presente estudo, sendo a maior semelhança no estágio de ovo, onde Rueda *et al.* (2010) observou 19,2 horas e no E foi observado 18 horas.

Paes *et al.* (2000) descreveram o desenvolvimento pós embrionário de *L. cuprina* no Brasil em diferentes níveis de putrefação de carne equina. Em carne com 24 horas de putrefação foi observado duração de 7,84 dias para larva e 10,57 dias de pupa. O desenvolvimento de neolarva a adulto foi de 18,31 dias em temperatura entre 20-22°C e umidade relativa entre 67-85%. Já Silva *et al.* (2006) descreveram o desenvolvimento de *L. sericata* na Universidade de Santa Maria e o desenvolvimento total foi em média de 14 dias em temperatura de 27°C e UR de 80%. A duração de ovo foi de 24 horas, larva foi de 5 a 6 dias e pupa de 7 a 8 dias.

Quando comparado o estudo de Paes *et al.* (2000) ao presente estudo é possível observar semelhança entre o tempo total de desenvolvimento (Tabela 5). Enquanto os autores observaram que *L. cuprina* teve seu desenvolvimento total médio de 18,31 dias, o presente estudo observou que a média de desenvolvimento entre o experimento e a repetição foi de 18,54 para *L. eximia*, em condições laboratoriais semelhantes. Entretanto, existiu uma grande diferença entre os estágios de larva e pupa (Tabela 5).

O estudo de Silva *et al.* (2006) diferiu bastante do presente estudo. Os autores descreveram o tempo de desenvolvimento de *L. sericata* em 14 dias, enquanto o presente estudo descreveu o de *L. eximia* em 17,6. Essa variação é explicada pela diferença de temperatura entre os experimentos, que variou de 27°C para Silva *et al* (2006) e 23,6°C para o presente estudo.

Como citado por Chaves (2016) a temperatura é um dos fatores ambientais que mais afetam o desenvolvimento de insetos. A grande diferença entre os experimentos citados é provavelmente decorrente da temperatura. O efeito da temperatura foi estudado por Paes *et al.* (2001), que testaram o desenvolvimento de *L. cuprina* sob diferentes temperaturas e observam que a 20°C o desenvolvimento foi de 19,82 dias, enquanto a 25°C o desenvolvimento foi de 15,34 dias. Tais resultados corroboram com o presente estudo, pois a temperatura variou entre 23,4-23,8°C e o desenvolvimento 17,6-17,8 dias para *L. eximia* durante o experimento e a repetição. Por serem espécies diferentes de um mesmo gênero, as exigências térmicas podem ser semelhantes.

Tabela 6. Média do tempo de desenvolvimento de larva, pupa e larva a adulto do presente estudo em comparação a Paes *et al.* (2000). O presente estudo foi desenvolvido com *L. eximia* com temperatura média de 23,6°C e UR média de 65%. Enquanto o estudo de Paes *et al.* foi desenvolvido com *L. cuprina* a 20-22°C e UR entre 67-85%.

Trabalho	Temperatura	Larva*	Pupa*	Total*
Paes <i>et al.</i> 2000	20-22°C	7,84±0,51	10,57±0,07	18,31±0,07
Presente estudo	23,4-23,8°C	10,04±1,59	8,5	18,54±1,85

*Em dias.

Observou-se que a grande variação entre os dois experimentos foi na eclosão do ovo, enquanto no E1 demorou-se 18 horas, no E2 demorou apenas 8 horas. Essa diferença de 10 horas afetaria na estimativa de IPM com grau dia acumulado.

Como descrito por Ramos-Pastrana *et al.* (2017), o desenvolvimento intra-pupario de *L. eximia* é de 302 horas, onde 80 para pré-pupa e 222 para pupa da geração F1, criada em laboratório em temperatura de cerca de 25°C e UR de 96%. Ambos no experimento e na repetição a pré-pupa duraram 186 horas e a pupa 204, em que somam 360 horas excluindo a sobreposição que não foi o foco do presente estudo. Em comparação, o período de pupa apresenta a menor diferença de 18 horas, enquanto a pré-pupa tem 106 horas de diferença entre os estudos.

Diversas variáveis podem justificar a diferença nos resultados de Ramos-Pastrana *et al.* (2017) quando se comparam aos desse estudo, como a temperatura e a umidade que foram usadas no experimento, assim como a região. Apesar de serem estudos com a mesma espécie, um foi realizado na Colômbia e outro no Brasil, ou seja, diferentes populações.

No E foi possível observar um crescimento progressivo das larvas até atingirem o terceiro estágio larval. As larvas de primeiro, segundo e terceiro instar tiveram uma diferença de quase 2 mm da 18ª hora até a 40ª hora (Gráfico 1). Da 18ª a 28ª hora as larvas tiveram média de 3,8 mm, da 28ª a 34ª tiveram 5,7 mm, da 34ª a 40ª tiveram 7,3 mm e da 40ª a 44ª 9,8 mm (Gráfico 1). Observou-se um pico de tamanho nas larvas de terceiro instar no intervalo da 44ª a 80ª hora, no qual as larvas apresentaram uma média de 13,70 mm (Gráfico 1). Porém, logo no final do terceiro instar larval e o estágio de pré-pupa, o tamanho os indivíduos apresentou uma estabilidade, e se mantiveram semelhante até empupar.

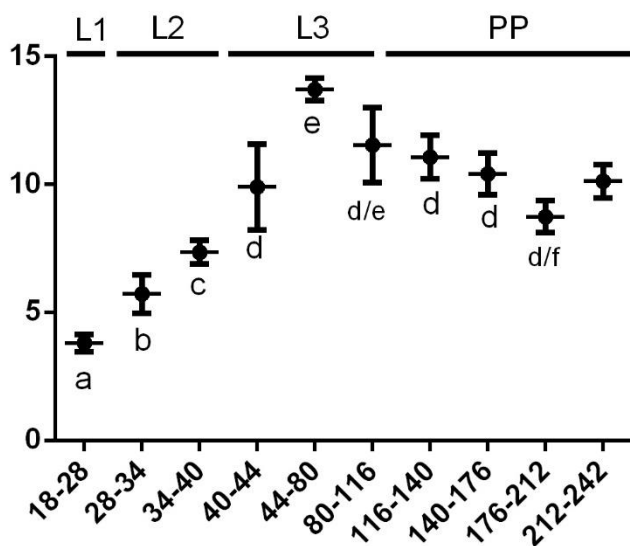


Gráfico 1. Tamanho (mm) das larvas de *L. eximia* por intervalo de tempo Experimento 1. As linhas na parte superior representam os diferentes estágios de desenvolvimento, L1, L2, L3 e pré-pupa. As letras iguais representam que não houve diferenças significativas e as letras diferentes representam diferenças significativas, baseados nos testes de múltipla comparação de Tukey.

Já no Gráfico 2 é possível observar o crescimento em tamanho (mm) das larvas na R. As larvas de primeiro, segundo e terceiro instar apresentam diferenças entre médias próximas a 1 milímetro entre si. Da 12^a a 16^a hora as larvas tiveram média de 3,2 mm, da 18^a a 22^a hora tiveram 4,3 mm, da 24^a a 28^a hora tiveram 5,7 mm, da 30^a a 34^a hora, 7,2 mm e da 36^a a 46^a 10,6 mm (Gráfico 2). O pico de tamanho no E2 foi de 13,2 mm da hora 64 a 88. É possível observar uma relação semelhante entre o experimento e a repetição, em que ambos apresentam um crescimento gradativo das larvas até chegarem em terceiro instar. No terceiro instar as larvas têm seu pico de tamanho e logo saem da dieta para entrar no estágio de pré-pupa, onde ficam com médias de tamanho relativamente constante.

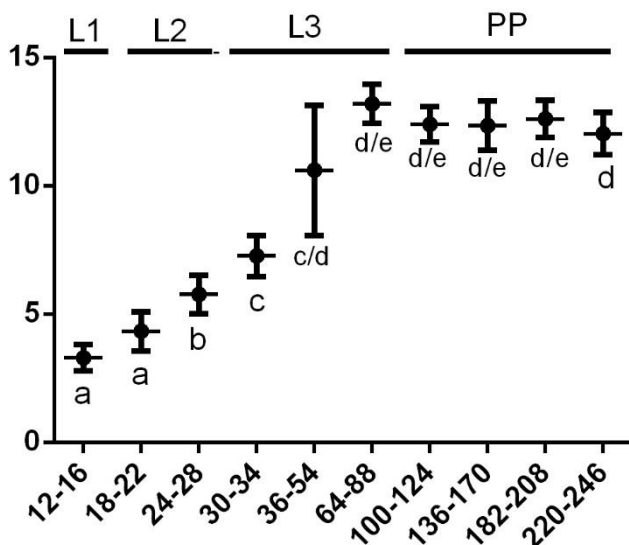


Gráfico 2. Tamanho (mm) de larvas de *L. eximia* por intervalo de hora na repetição. As linhas na parte superior representam os diferentes estágios de desenvolvimento, L1, L2, L3 e pré-pupa. As letras iguais representam intervalos numéricos que não houveram diferenças significativamente diferentes e as letras diferentes representam diferenças significativas intervalos numéricos diferentes, baseados nos testes de múltipla comparação de Tuckey.

Quando se compara o experimento e a repetição é possível observar que existe uma grande variação quanto ao tamanho dos imaturos

(Gráfico 3), o que dificulta a relação entre o tamanho da larva e a estimativa de IPM. A variação de tamanho pode ser resultado da variabilidade entre indivíduos da espécie e do próprio gênero. É possível observar um intenso crescimento durante os primeiros estágios larvais, justificando a coleta de feita a cada duas horas até chegarem em terceiro instar como feito por Barros-Cordeiro e Pujol-Luz (2010) e Barcelos (2014) com *C. megacephala*. Porém, a relação biológica entre tamanho e tempo de desenvolvimento também não possível no trabalho de Barcelos (2014).

A importância do estudo minucioso dos estágios larvais para estimativa do IPM é extremamente necessária para distinguir principalmente larvas de terceiro instar de pré-pupas. Apesar de apresentarem semelhanças morfológicas a olho nu, as larvas de terceiro instar são encontradas no substrato, enquanto as pré-pupas já estão fora do substrato. As pré-pupas abandonam a dieta quando estão entrando em processo de empupar. Além disso, o estágio de pré-pupa apresenta um padrão de propagação, Pires *et al.* (2010) testaram a dispersão larval pós-alimentar de *L. sericata* e observaram podem chegar a 50 cm de distância do ponto inicial, mas se concentram entre 33 cm a 45 cm. Enquanto Gomes e Von Zuben (2004) fizeram o mesmo trabalho com *L. cuprina* e observaram que as pré-pupas chegavam de 15 cm a 20 cm do ponto inicial. Isso sugere, que durante a perícia a observação dos entornos de um cadáver encontrado com massas larvais importante, já que a pré-pupa pode ser o inseto mais velho oriundo do cadáver.

Portanto, características de como e onde as larvas foram coletadas são de extrema importância para a estimativa de um IPM correto. Já que larvas de terceiro instar e pré-pupa podem ser confundidas quando não se tem tais informações.

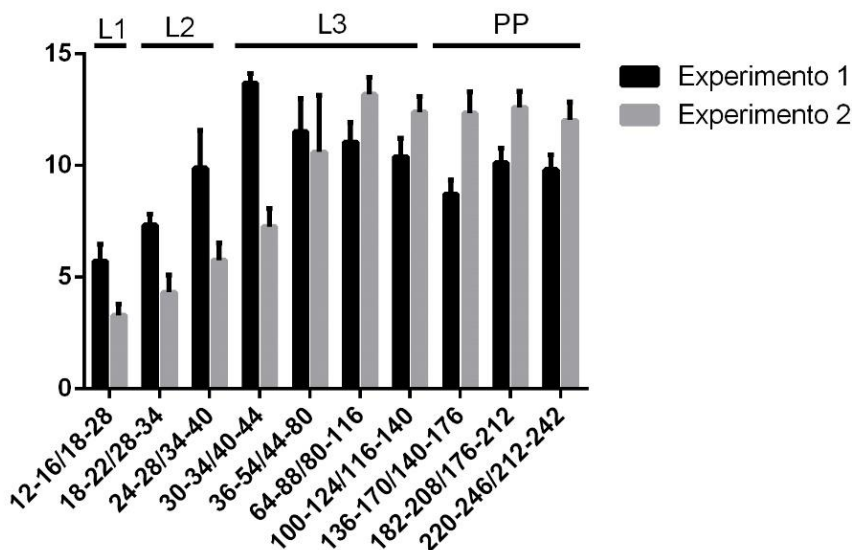


Gráfico 3. Comparação entre as médias de tamanho de cada estágio de *L. eximia* por intervalos de tempo.

Do experimento e a repetição emergiram 74 adultos, dos quais 44 machos e 30 fêmeas. O teste qui-quadrado (X^2) foi feito com uma proporção esperada de 1:1 o que foi aceita pela análise estatística ($p=0,2477$). Embora tenha sido demonstrado que pode haver diferenças na proporção de machos e fêmeas nas gerações F1, F2 e F3 criadas em laboratório (Firoozfar *et al.*, 2012), isto não foi verificado em nossos resultados.

6 CONCLUSÃO

- ✓ O tempo de desenvolvimento médio pós-embrionário de *L. eximia* é de $17,75 \pm 0,11$ dias para região de Florianópolis em temperatura média de $23,6 \pm 0,2^\circ\text{C}$;
- ✓ Não existe diferença entre o tempo de desenvolvimento total entre o experimento e sua repetição;
- ✓ O estágio de ovo apresentou diferença estatisticamente relevante de 10 horas entre o experimento e a repetição;
- ✓ Não foi possível relacionar biologicamente o tamanho da larva com o tempo de desenvolvimento ;
- ✓ Houve diferenças estatísticas quanto ao tamanho das larvas quando comparadas;
- ✓ O estágio larval durou $10,04 \pm 1,59$ dias e pupa 8,5 dias.

REFERÊNCIAS

- Almeida, E. C.; Junior, M. F.; Oliveira, R. P.; Anchieta, J.; Tronchini, M. P.; Conceição, T. S.; Silva, J. S. F. P.; Rosa, R. e Salles, J. C. Noções de perícia criminal e o vestígio entomológico na estimativa do IPM. In: Gomes, Leonardo. **Entomologia Forense: novas tendências e tecnologias nas ciências criminais**. Rio de Janeiro: Technical Books Editora, p. 133-168, 2010.
- Amendt, J.; Krettek, R. e Zehner, R. Forensic entomology. **Naturwissenschaften**, v. 91, n. 2, p. 51-65, 2004.
- Andrade, H. T. A.; Varela-Freire, A. A.; Batista, M. J.; e Medeiros, J. F. Calliphoridae (Diptera) Coletados em Cadáveres Humanos no Rio Grande do Norte. **Neotropical Entomology**. v. 34, n. 5, p. 855-856, 2005.
- Archer, M. S., e Elgar, M. A. "Effects of decomposition on carcass attendance in a guild of carrion-breeding flies." **Medical and veterinary entomology**. v.17, n.3, p. 263-271, 2003.
- Azevedo, R., R e Krüger, R. F. The influence of temperature and humidity on abundance and richness of Calliphoridae (Diptera). **Iheringia, Série Zoologia**. v. 103, n. 2, p. 142-152. Porto Alegre. 2013.
- Barcelos, P. dos S. **Desenvolvimento Pós-embrionário de *Chrysomya megacephala* (Fabricius 1794) (Diptera: Calliphoridae) em temperatura ambiente e efeito de baixas temperaturas sobre a eclosão dos ovos**. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Ciências Biológicas) - Centro de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Santa Catarina. Florianópolis. 2014.
- Barros-Cordeiro, K. B. & Pujol-Luz, J. R. Morfologia e duração do desenvolvimento pós-embrionário de *Chrysomya megacephala* (Diptera: Calliphoridae) em condições de laboratório. **Papéis Avulsos de Zoologia**: Museu de Zoologia da Universidade de São Paulo, v. 50, n. 47, p. 709 - 717, 2010.
- Barros-Souza, A. S., Ferreira-Keppler, R. L. e Brito, D. de A. "Development period of forensic importance Calliphoridae (Diptera: Brachycera) in urban area under natural conditions in Manaus, Amazonas, Brazil." **EntomoBrasilis**. v.5, n.2, p. 99-105, 2012.

Byrd, J. H. e Castner, J. L. (Ed.). Forensic entomology: the utility of arthropods in legal investigations. CRC press, 2009.

Carvalho, C. J. B. de, e Mello-Patiu, C. A. d. “Key to the adults of the most common forensic species of Diptera in South America.” **Revista Brasileira de Entomologia**. v.52, n.3, p.390-406, 2008.

Carvalho, L. M. L.; Thyssen, P.; Goff, M. L e Linhares, A. X.. Observations on the succession patterns of necrophagous insects on a pig carcass in an urban area of Southeastern Brazil. **Forensic Medicine and Toxicology**, v. 5, p. 33-39, 2004.

Chaves, B. O. **Fatores que interferem na estimativa do intervalo pós-morte ao utilizar a entomologia forense**. 2016. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharel em Biomedicina). Faculdade de Ciências da Educação e Saude – FACES, Centro Universitário de Brasília – UNICEUB.

Denno, R. e W. R. Cothran. Niche relationships of a guild of necrophagous flies. **Annals of the Entomological Society of America**. v. 68, p. 741–754. 1975.

Firoozfar, F.; Mosa, K. S. H.; Shemshad, K.; Baniardalani, M.; Abolhasani, M.; Biglarian, A.; Enayati, A. e Rafinejad, J. Laboratory colonization of *Lucilia sericata* Meigen (Diptera: Calliphoridae) strain from Hashtgerd, Iran. **J Vector Borne Dis**. v. 49, n.1. 2012.

Gallo, D.; Nakano, O.; Silveira, N. S.; Carvalho, R. P. L.; Batista, G. C. de; Berti Filho, E.; Parra, J. R. P.; Zucchi, R. A.; Alves, S. B.; e Vendramim, J. D. **Manual de Entomologia Agrícola**. São Paulo, Editora Agronômica Ceres. 2 ed. 649p. 1988.

Gomes, L. e Von Zuben, C. J. Dispersão larval radial pós-alimentar em *Lucilia cuprina* (Diptera, Calliphoridae): profundidade, peso e distância de enterramento para pupação. **Ihenrigia, Sér. Zool**. v. 94, n. 2, p. 135-138. 2004.

Kosmann, C. **Código de barras (DNA barcode) de dípteros de interesse forense**. Dissertação (Mestrado em Entomologia). Departamento de Pós-Graduação em Ciências Biológicas, Universidade Federal do Paraná. 2009.

Kosmann, C.; Mello, R. P. de; Harterreiten-Souza, E. e Pujol-Luz, J. R. "A list of current valid blow fly names (Diptera: Calliphoridae) in the Americas South of Mexico with key to the Brazilian species." **EntomoBrasilis**. v.6, n.1, p. 74-85, 2013.

Krüger, R. F.; Kirst, F. D. e Souza, A. S. B. Rate of development of forensically-important Diptera in southern Brazil. **Revist Brasileira de Entomologia**. v. 54, n.4, p. 624-629. 2010.

Lewinsohn, T.M. & P.I. Prado. **Biodiversidade Brasileira. Síntese do estado atual do conhecimento**. São Paulo, Ed. Contexto. 2002

Lewinsohn, T.M. & P.I. Prado. Quantas espécies há no Brasil? **Megadiversidade**. v.1, p. 36-42. 2005

Madeira, N. G., Silveira, G. A. R e Pavan, C. The occurrence of primary myiasis in cats caused by *Phaenicia eximia* (Diptera: Calliphoridae). **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**. v.84, p. 341-341, 1989.

Moura, M.O., C.J.B. Carvalho e E.L.A. Monteiro-Filho. A preliminary analysis of insects of medico-legal importance in Curitiba, State of Paraná. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**. v.92, p. 269-274, 1997.

Moretti, T. C. e Thyssen P. J. Miíase primária em coelho doméstico causada por *Lucilia eximia* (Diptera: Calliphoridae) no Brasil: relato de caso. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec**. v. 58, n. 1, p. 28-30. 2006.

Munoz-García, C. I.; Lozenzo-Burgunder, D.; Gumi-Castillo, G.; Perelló-Undreine, D.B; Zenteno-Nava, E. e Orozco-Gregorio, H. Canine myiasis by *Lucilia eximia* in North America. **Tropical Biomedicine**. v. 33, n. 3, p.494-499. 2016.

Oliveira-Costa, J. Entomologia forense: quando os insetos são os vestígios. In: **Tratado de perícias criminalísticas**. Millennium, 2008.

Queiroz, M. M. de C. & Milward-de-Azevedo, E. M. V. Técnicas de criação e alguns aspectos da biologia de *Chrysomya albiceps* (Wiedemann) (diptera, Calliphoridae), em condições de laboratório. **Revista Brasileira de Zoologia**, v. 8, p. 75 - 84, 1991.

Ramos-Pastrana, Y.; Londono, C. A. e Wolff, M. Intra-puparial development of *Lucilia eximia* (Diptera, Calliphoridae). **Acta Amazonica**. v. 47, n.1. 2017.

Rueda, L. C.; Ortega, L. G.; Segura, N. A.; Acero, V. M. e Bello, F. *et al.* *Lucilia sericata* strain from Colombia: Experimental colonization, life tables and evaluation of two artificial diets of the blowfly *Lucilia sericata* (Meigen)(Diptera: Calliphoridae), Bogotá, Colombia Strain. **Biological research**, v. 43, n. 2, p. 197-203, 2010.

Paes, M. J.; Brito, L. G.; Branco, M. C.; e Moya-Borja, G. E. Desenvolvimento pós-embrionário de *Lucilia cuprina* (Wied., 1830) (Diptera: Calliphoridae) criada em dieta a base de carne equina em diferentes estágios de putrefação. **Parasitol.** v. 24, n.3-4. 2000

Paes, M. J.; Brito, L. G.; Moya-Borja, G. E. e Daemon, E. Determinação das exigências térmicas para o desenvolvimento pós-embrionário de *Lucilia cuprina* (Wied. 1830) (Diptera: Calliphoridae). **Parasitol.** v. 25, n. 3-4. 2001.

Pires, S. M.; Zimmer, C. R.; Cárcamo, M. C. e Ribeiro, P; B. Dispersão larval pós-alimentar de *Lucilia sericata* (Diptera, Calliphoridae) em condições de laboratório. **Ihenrigia, Sér. Zool.** v. 100, n. 3, p. 254-258. 2010.

Pujol-Luz, J. R., Arantes, L. C. e Constantino, R. "Cem anos da entomologia forense no Brasil (1908-2008)." **Revista Brasileira de Entomologia**. v.52, n.4, 2009.

Silva, A. S. da; Zanette, R. A. e Monteiro, S. G. Biologia da mosca *Phaenicia sericata* em diferentes substratos. **Rev. Bras. Parasitol. Vet.** (online). v.17, n.2. 2008.

Sharma, R.; Garg, R. K.; Gaur, J. R. Various methods for the estimation of the post mortem interval from Calliphoridae: A review. **Egyptian Journal of Forensic Sciences**. v. 5, n. 1, p. 1-12. 2005.

Stevens, J. e R. Wall. "Classification of the genus *Lucilia* (Diptera: Calliphoridae): a preliminary parsimony analysis." **Journal of Natural History**. v.30, n.7, p. 1087-1094, 1996.

Souza, A. M. de. **Sucessão entomológica na decomposição de carcaça animal, com ênfase nas famílias Calliphoridae e Sarcophagidae (Diptera)**. Dissertação (Mestrado). Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas. Universidade Estadual de Campinas. 1994.

Souza, A. S. B. de; Ferreira-Kepper, R. L. Survival of *Lucilia eximia* (Wiedemann) (Diptera, Calliphoridae) pupae after submersion in laboratory. **Revista Brasileira de Entomologia**, v. 53, n. 3, p. 490-492, 2009.

Souza, A. S. B. de; Kirst, F. D. e Krüger, R. F. Insects of forensic importance from Rio Grande do Sul state in southern Brazil. **Revista Brasileira de Entomologia**, v. 52, n. 4, p. 641-646, 2008.

Sanford, M. R., Whitworth, T.L. e Phatak, D. R. "Human wound colonization by *Lucilia eximia* and *Chrysomya rufifacies* (Diptera: Calliphoridae): Myiasis, perimortem, or postmortem colonization?." **Journal of medical entomology**. v.51, n.3, p. 716-719, 2014.

Stork, N. E. How many species of insects and other terrestrial arthropods are there on Earth?. **Annual Review of Entomology**. v. 63, p. 32-45. 2018.

Pereira, C. T. e Carvalho-Pinto, C. J. Levantamento de dípteros de interesse forense coletados em cadáveres humanos na Grande Florianópolis, SC. Poster apresentado: **XXVII Congresso Brasileiro de entomologia**. Gramado, Brasil. 2-6 Set. 2018.

Wall, R.; French, N. P. e Morgan, K. L. Effects of temperature on the development and abundance of the sheep blowfly *Lucilia sericata* (Diptera: Calliphoridae). **Bulletin of Entomological Research**. V. 82, p.125-132. 1992.